

## アルゼンチンプロポリスのフラボノイド含量

E. L. Bedascarrasbure, L. M. Maldonado,  
A. R. Alvarez, A. van der Horst, E. Rodriguez

フラボノイド類は、フェノール酸やそれらのエステル類とともに、「フェノール化合物」と総称され、現在のところプロポリスの主な生理活性成分として考えられている (Marcucci et al., 1995). 太陽光の紫外線領域を吸収、あるいは反射することによって、植物上では、主だった光感受性の組織を太陽光線から守っている物質群でもある。

フラボノイドは、シンナモイル基に連結した (置換基として少なくとも水酸基をもつ) 芳香族環をもつことにより特徴付けられている。その中でも、アピゲニン apigenin, ケルセチン quercetin, ケンフェロール kaempferol, ピノセブリン pinocembrin, ガランギン galangin, ヘスペリジン hesperidin などはプロポリスと植物にほとんど共通にみられる。これらの化合物は重要な抗酸化作用をもち、資質の過酸化や遊離基の影響を最少に抑え、心 (臓) 血管病 (Hertog ら, 1993) や老化の危険を低減する働きがある。このような特質を人間、あるいは家畜用の薬品として応用するためには、まず最初に、プロポリスの基準化作業が不可欠である (Bankova et al., 2000)。

セイヨウミツバチ *Apis mellifera* は種々の植物から樹脂を集め (Vanhaelen and Vanhaelen-Fastre, 1979), それらはおそらく、ある酵素化学的な転換を経て、混合されプロポリスになる (Ghisalberti, 1979)。それゆえに、プロポリスの化学組成は産地の植物相により変動する (Greenaway et al., 1990)。この研究は、アルゼンチン各地のプロポリスのフラボノイド含有量を調べることを目的に、「アルゼンチンプロポリスと抽出液の物性および化

学特性」と題された事業の手始めに行われた。

### 材料および方法

#### 1. 試料

アルゼンチン全土の異なった養蜂場から得られた 84 試料のプロポリスを分析した。試料のほとんどは国立農業技術研究所 INTA と国立ブエノアイレス大学 UNCPBA の事業である、総合養蜂開発計画 PROAPI を通じて集められたもので、それ以外のものは個々の養蜂家から送られてきたものを用いた。

各試料には、養蜂家の住所氏名、収穫方法、採取時期、養蜂場のデータ (場所、規模、主な植物) を記したデータ登録表を添付した。試料は 1999 年と 2000 年に採取され、 $-15^{\circ}\text{C}$  で分析前まで貯蔵された。実際の試料採取地は、チャケニアン公園、カルチャキ渓谷、パンパス大草原、クーヨーおよびパタゴニア北部である。各採取地の特徴は以下の通りである。

#### チャケニアン Chaquenean 公園

東はブラジル南部、北はパラグアイ、北西はボリビア、南はコルドバ山に及ぶ、森林とサバンナに覆われた広大な平原にあり、サンタフェ州の約半分の面積がある。気候的には亜熱帯で、年間平均温度  $15\sim 23^{\circ}\text{C}$  である。降水量は  $400\sim 1000\text{mm}$  で春と夏に集中し、冬は一般に乾季である。植生は雑多で、抛水林とその他の森林が、背の高いイネ科植物で覆われたサバンナと交互に出現する。自生の木本類としてよく見られるものには以下のものがある。ナツメ属 *Zizyphus mistol*, キョウチクトウ属 *Aspidosperma* (white quebracho), *Schinopsis lorentzii*, *Prosopis alba*, *P. nigra*,

アカシア属 *Acacia caven*, *Geoffroea decorticans*, *Bulnesia sarmienti*, *Piptadenia macrocarpa*, *Astronium balansae*, *Tabebuia ipe*, *Schinopsis balansae*, *Chorisia insignis*.

草本は *Panicum*, *Setaria*, *Eragrostis*, *Pappophorum*, *Elionorus* など. この地域には綿, 柑橘類, トウモロコシ, 大豆, タバコが栽培されている.

#### カルチャキ溪谷 Calchaqui Vallex

アルゼンチンの北西に位置し, カタマルカ, ツクマン, サラタ州を南北に貫いている, 低いところで 1600m, 最高標高地で 2900m の高地である. 気候的には年間降水量 200mm, 平均湿度 56% の乾燥地帯である. 年間平均気温は 16°C で, 最高 39°C, 最低 -12°C と差が激しい. 植生は灌木主体で, マメ科の種が目立つ. 代表的なものとして, *Cercidium praecox*, *Larrea divaricata*, *L. cuneiform*, *Acacia caven*, *Atamisquea emarginata* がある. 水源のあるところでは, *Prosopis spp*, *Acacia aroma*, *Acacia visco*, *Geoffraea decortican* と *Celtis tala* などに特徴づけられる樹木層が発達する. また, 雨季に *Stipa*, *Aristides*, *Setaria*, *Eragrostis* 属の数種が草本層として発達する.

#### パンパス大草原 Pampean Steppe

草本に覆われた, ほとんど海拔 0m で, 西東にほとんど傾斜のない, 巨大な平原である. ブエノスアイレス州の全体, サンタフェ州南部, コルドバ州南部, ラパンパ州北東部, サンルイス州の南縁を占めている. 気候は夏暑く, 冬寒い温暖地帯で, 極めて稀に降雪がみられる. 気温はブエノスアイレスの南部での 14°C からチャケニアン公園との境界付近での 18°C まで変動する. 降水量も西部では 500mm, 北部では 1000mm と大きく差があるが, 降雨日数はいずれも約 80 日間である. それも主に春と秋に集中し, 夏には少なく, 冬にはほとんど雨は降らない. 本来は, 木本類を完全に欠く, イネ科植物主体の大草原であったが, 今日では, 大きく変化していて, かつては見えていた地平線も, 林によって遮られて見えなくなっている. 出現頻度が高いイネ科の植物では, 熱帯性の

*Arstide*, *Eragrostis*, *Chloris*, *Sporobolus*, *Panicum*, *Elionurus* などの属がよく見られる. 一部の地域ではトウモロコシ, 小麦, 大豆, 綿花, 大麦, ソルガム, ヒマワリ, 果樹類, 柑橘類などが集中的に栽培されている.

#### クーヨー Cuyo

ラリオハ, サンファン, メンドーサの各州にわたり, アルゼンチンの西部中央に位置する一帯である. 全体の約 5% が灌漑され, 集約的農業地帯となっている. 全体に乾燥, または半乾燥気候である. 西にはアンデス山脈が位置し, その標高と氷河の冷気により, 冬には降雪がみられ, また強い西風が常時吹く. この西風は, 山間部で湿気を失い, 暖かく非常に乾燥した風として下ってくる. 降水量は中央と北部は 500 mm で南部では 1000mm に達する. 山麓部では 7 月の 5°C から 12 月の 23°C まで気温の変動があり, 山間部では 1 年の半分以上が 0°C となる. 主な植物相は *Larrea sp.* で, イネ科の草本である *Stipa sp.* 属が草層をなす. *Montea aphylla*, *Prosopis strombulifera*, *Prosopis sp.* のような数種の葉のない木や *Geoffrea decorticans*, *Bulnesia retamo*, *Schinus sp.* などみられる. 開発地にはポプラ類 *Populus sp.*, ヤナギ類 *Salix* の他, リンゴ, 洋梨, マルメロ, プラム, アーモンド, モモのような果樹が普通である.

#### パタゴニア北部 North Patagonia

ネウケンとリオネグロ両州は, 温帯で非常に乾燥した地域である. 年間平均気温は 13°C, 夏に集中する降水量は年間 100~400mm 程度で非常に少ない. 植生は点在する *Prosopis* の木と 1~3m の高い藪からなり, 草本は乏しい藪は, 代表的な低木 *Larrea divaricata*, *L. nitica*, *L. Cuneifolia* が 10~20% を占めている. また, *Cercidium praecox*, *Prosopis striata*, *P. Argentina*, *P. Alpataco*, *P. Strombulifera* と数種の *Acacia*, *Bougainvillea*, *Bulnesia* の他, *Opuntia* 属と *Cereus* 属の植物が多種みられる. 灌漑された耕作地には, 主に果樹と野菜類の栽培が行われている.

#### 2. 分析方法

ワックスをソックスレー抽出器を用いてヘキサンで抽出、除去し、残った樹脂部分を96%エタノールで抽出した (Bedascarrasbure et al., 2000). 総全フラボノイド量および紫外外部吸収スペクトルはこのエタノール抽出液を用いて測定した. 総フラボノイド量 (ケルセチン相当量) は, メタノール中での塩化アルミニウムとフラボノイド類の錯体の, 425nm における吸光度を, 標準物質としてケルセチン 2 水和物を用いて測定した (Woisky と Salatino, 1998). 紫外外部吸収スペクトルは, 各試料のエタノール抽出液を希釈して測定した (Markham, 1982).

### 結果および考察

アルゼンチン各地から採取されたプロポリス試料の総フラボノイド量はチャケニアン公園の3.61%からカルチャキ溪谷の12.28%まで, 大きな差がみられた (表1). パンパス大草原, ク

表1 各地域産プロポリスのフラボノイド含量

地域	n	総フラボノイド量* 平均±標準誤差
パンパス大草原	33	7.87±0.39
クーヨー	11	9.44±1.03
チャケニアン公園	21	3.61±0.40
パタゴニア北部	5	5.91±0.77
カルチャキ溪谷	11	12.28±1.37

\* (%w/w)

ーヨー, カルチャキ溪谷の値は Bonhevi and Coll (1994) の報告したブラジル, ウルグアイ, 中国産のプロポリスよりもはるかに多く, チャケニアン公園のフラボノイド含量でも Woisky and Salatino (1998) の報告した同じ分析技術で測定したブラジル6地域の0.77~2.69%という値に較べてわずかに大きかった.

総フラボノイド量について統計的な検定を行うためにノンパラメトリック検定を行った. これは, 各地のサンプルについてどの程度の変動

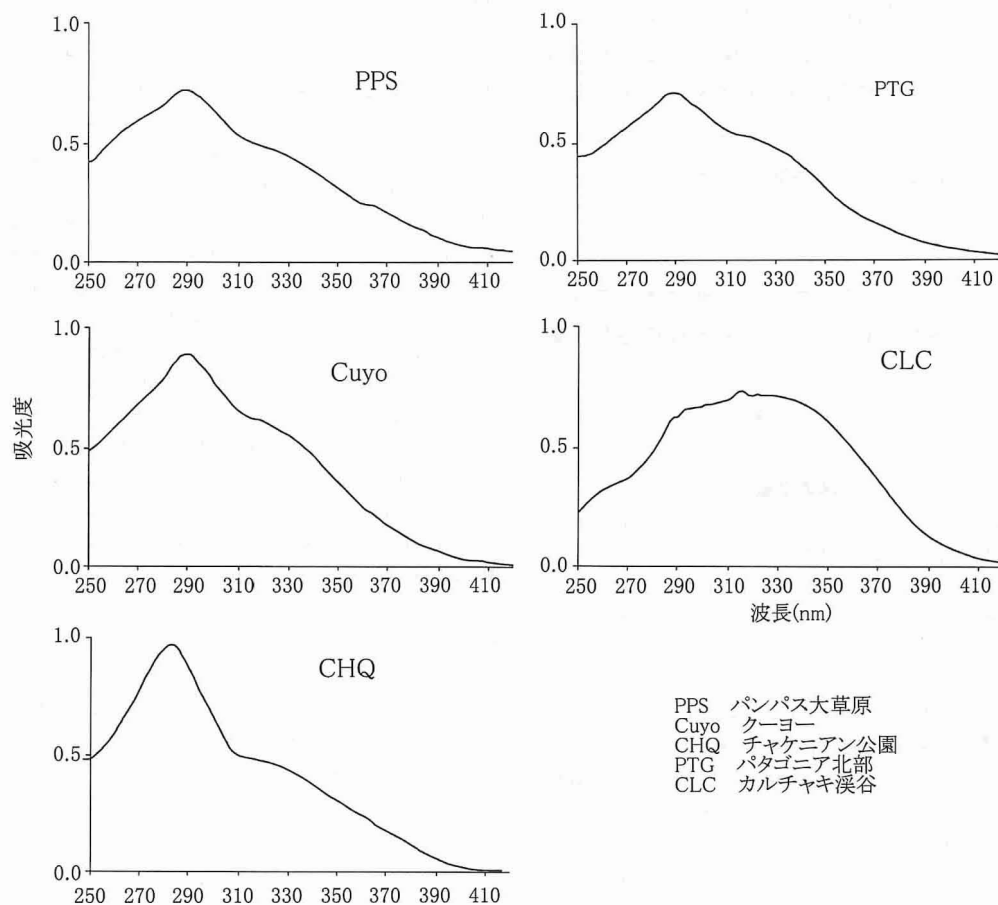


図1 各地域産プロポリスの紫外外部吸収スペクトル

があるかを示すことになり、プロポリスの基準策定にあたって大変意味のあることでもある。フラボノイドを最も多く含んでいるプロポリスはカルチャキ溪谷産のものであるが、それはおそらく標高の高い溪谷部であるこの地域の植物が受けている太陽光線の質的な違いを反映しているともいえるだろう。もっともこの点については、今後の研究で証明していかなければならない。

紫外部吸収スペクトル(図1)からは、プロポリス中に含まれるフラボノイドとフェノール化合物の組成の差に一致するような異なったプロファイルが得られたものと推論できる。しかし、クロマトグラフィー分析によってのみ、種々のフェノール化合物、とりわけフラボノイドのプロファイルに関して、成分の同定を行うことができる。

この予備的な結果からは、アルゼンチンプロポリスは、生理活性成分、主にフラボノイドを高含有率で含んでいると結論できる。各地域間、あるいは地域内にみられる有意な差から、それぞれ異なるプロポリスのタイプ分けによる基準化が必要であると判断される。

## 謝辞

「アルゼンチンプロポリスと抽出液の物性および化学特性」事業は、国立科学技術振興事業団の助成を受けた。

(翻訳 江澤 真 著者の住所は下記参照)

## 参考文献

- Bankova, V.S., S.L. Castro and M.C. Marcucci. 2000. *Apidologie* 31:3-15.
- Bedascarrasbure, E.L., L. Gurini, L.M. Maldonado, A.R. Alvarez and A. van der Horst. 2000. *Anales del Congreso Internacional de Propoles*, p. 102.
- Bonvehí, J. S., T. Scaysbrook and F. R. Whatley. 1990. *Bee World* 71:107-118.
- Hertog, M.G., E.J. Feskens, P.C. Hollman, M.B. Katan and D. Kromhout. 1993. *Lancet* 342: 1007-1011.
- Mabry, T. J., K. R. Markham and M. B. Thomas. 1970. *Systematic identification of flavonoids*. Springer Verlag; New York, USA, 354 pp.

- Marcucci, M.C. 1995. *Apidologie* 26:8399.
- Markham, K. R. 1982. *Techniques of flavonoid identification*. Academic Press, London. 113 pp.
- Vanhaelen, M. and R. Vanhaelen-Fastre. 1979. *J. Pharm. Belg.* 34:253-259.
- Woisky, R.G. and A. Salatino. 1998. *J. Apic. Res.* 37:99-105.
- E. L. BEDASCARRASBURE, L. M. MALDONADO, A. R. ALVAREZ, A. VAN DER HORST and E. RODRIGUEZ. Content of flavonoids in the Argentinean propolis. *Honeybee Science* (2001) 22(2): 75-78. INTA EEA, UNCPBA, PO Box 11, 4132 Famaila Tucumain, Argentina.

The flavonoids, together with phenolic acids and their esters, are considered the main bioactive components of propolis at the moment. These compounds have important antioxidant, antibacterial, antifungal, antiviral and anti-tumoral properties. It is known that *Apis mellifera* collects the resins from several plants, therefore the chemical composition of propolis will vary according to the flora of each region. This work was carried out in order to evaluate the content of these compounds in the Argentine propolis from different regions of the country in the mark of the project "Physical and chemical characterization of Argentinean Propolis and their extracts". The total flavonoids content was located among 3.61% for the Chaqueñan Park and 12.28% for the Calchaquí Valley. The values found in the Pampean Steppe, Cuyo and Calchaquí Valley were superior to those reported by Bonvehí et al. (1990) in propolis from Brazil, Uruguay and China. The values determined in samples from Chaqueñan Park was slightly superior to the one reported by Woisky and Salatino (1998) for Brazilian propolis. Different composition of flavonoids and phenols in propolis from different regions of Argentina are shown by the UV spectrum. The preliminary results allow to affirm that the Argentinean propolis presents a high content of biologically active compounds as the flavonoids.